

## PENENTUAN KADAR FLAVONOID DAN KAPASITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KELOR (*Moringa oleifera* L) DENGAN METODE DPPH, CUPRAC DAN FRAP

Haeria, Nurshalati Tahar, Munadiyah

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar,

Jl. H.M Yasin Limpo, No.36 Samata Gowa, Indonesia

Email : nurshalati.tahar@uin-alauddin.ac.id

### ABSTRAK

Tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) sering disebut “*miracle tree*” dikarenakan semua bagian tumbuhan kelor sangat bermanfaat bagi kehidupan masyarakat. mulai dari daun, kulit batang, biji hingga akarnya, tumbuhan ini sudah dikenal luas sebagai tumbuhan obat. Kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid dan kapasitas antioksidan dari kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). Pengukuran kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan 3 metode yaitu CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant capacity*), DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil), dan FRAP (*ferric reducing antioxidant power*). Hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) mengandung kadar flavonoid sebesar 20,17 mg QE/g Ekstrak dan untuk kapasitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu 20,97 mg Tr/g Ekstrak, metode CUPRAC didapatkan hasil 4,82 mg Tr/g Ekstrak dan metode FRAP yaitu 2,49 mg Tr/g Ekstrak.

**Kata kunci :** *Moringa oleifera* L. , Antioksidan, flavonoid, CUPRAC, DPPH, FRAP.

### PENDAHULUAN

Didalam tubuh kita setiap saat terjadi reaksi oksidasi sehingga memicu terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur dan fungsi sel. Tetapi reaktivitas radikal bebas tersebut dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Oksidasi merupakan proses alami yang dapat terjadi ketika suatu zat berikatan dengan oksigen (Wijayanti, 2011)

Antioksidan adalah senyawa yang melindungi sel melawan kerusakan akibat oksigen reaktif. Ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksigen reaktif mengakibatkan stres oksidatif yang

JF FIK UINAM Vol.6 No.2 2018

menimbulkan kerusakan sel (Haris, 2011).

Salah satu tanaman yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan adalah pohon kelor (*Moringa oleifera* L). Tumbuhan kelor sering disebut “*miracle tree*” dikarenakan semua bagian tumbuhan kelor sangat bermanfaat bagi kehidupan masyarakat. Mulai dari daun, kulit batang, biji hingga akarnya, tumbuhan ini sudah dikenal luas sebagai tumbuhan obat (Jonni, 2008).

Metode yang digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan yaitu DPPH (1,1-difenil-1-pikrilhidrazil), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) dan CUPRAC (*cupric ion reducing antioxidant*

*capacity*). Tujuan metode ini adalah untuk mengetahui tingkat besarnya kapasitas antioksidan dari masing-masing metode (Apak, 2007)

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini akan dilakukan penentuan kadar flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) dengan metode CUPRAC, DPPH dan FRAP.

## METODE PENELITIAN

### 1. Alat Dan Bahan

Alat-Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian Ini Adalah Corong, Desikator, Erlenmayer (Pyrex), Gelas Kimia (Pyrex), Gelas Ukur (Pyrex), Gelas Arloji, Kuvet, Labu Tentu Ukur (Pyrex), Neraca Analitik (Kern), Ph, Pipet Tetes, Pipet Mikro (Dragonlab), Pipet Volume (Pyrex), Rotavapor (Ika Rv 10), Sendok Tanduk, Sonikator (Krisbow), Spektrofotometri Uv-Vis (Apel), Toples, Vial.

Bahan-Bahan Yang Digunakan Yaitu Aluminium (Iii) Klorida 2%, Aquadest, Buffer Asetat pH 3,6, Buffer Amonium Asetat pH 7,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  DPPH (1,1-Difenil-1-Pikrilhidrazil), Etanol 96%, Ethanol P.A,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , HCl, Kalium Asetat 120 mM, Kertas Saring, Kertas Perkamen, Neokuproin Etanolik, Quersetin, Simplisia Kulit Batang Kelor, TPTZ (2,4,6-Tripyridyl-S-Triazine), Troloks.

### 2. Ekstraksi Sampel

Kulit batang kelor yang telah dikeringkan, dimaserasi dengan menggunakan etanol 96 %, dimasukkan ke dalam wadah, ditutup dan didiamkan selama 3 x 24 jam, tanpa terkena cahaya, setelah didiamkan selama 3 x 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga didapat maserat. Maserat kemudian dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45-50 °C sampai diperoleh ekstrak kental.

### 3. Penentuan Kadar Flavanoid dalam ekstrak dengan Metode $\text{AlCl}_3$

#### Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{\text{Maks}}$ ) Kuersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin dilakukan melalui *running* larutan kuersetin pada range panjang gelombang UV-Vis 400-450 nm. Dari hasil *running* kuersetin yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 435 nm dan data tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*).

#### Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Standar kuersetin ditimbang sebanyak 12,5 mg dan dilarutkan dalam 25 mL etanol (500 ppm). Dari larutan standar kuersetin 500 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm dipipet 0,1 mL, 15 ppm dipipet 0,15 mL, 20 ppm dipipet 0,2 mL, 25 ppm dipipet 0,25 mL, 30 ppm dipipet 0,3 mL, dan 35 ppm dipipet 0,35 mL. Dari masing-masing

konsentrasi larutan standar kuersetin dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 435 nm.

Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera* L.)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL larutan  $\text{AlCl}_3$  2 % dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 435 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi. Berdasarkan pengukuran absorbansi, konsentrasi flavonoid dibaca dalam ( $\mu\text{g/mL}$ ) garis kalibrasi, kemudian kandungan flavonoid dalam ekstrak dinyatakan dalam ekuivalen kuersetin (mgQE/g ekstrak).

#### 4. Kapasitas Antioksidan Metode DPPH

Pembuatan larutan DPPH 0,343 mM

Ditimbang DPPH sebanyak 13,52 mg kemudian dilarutkan dalam etanol p.a dengan menggunakan labu ukur 100 mL sehingga kadarnya 0,343 mM.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{\text{Maks}}$ )

Pengujian dilakukan dengan mencampur 2,5 mL DPPH 0,343 mM dengan 1 mL etanol p.a dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil running yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm.

Pembuatan Kurva Baku Trolox®

Trolox® ditimbang sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (50 ppm). Dari larutan Trolox® 50 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 5 ppm dipipet 0,5 mL, 7 ppm dipipet 0,7 mL, 9 ppm dipipet 0,9 mL, 11 ppm dipipet 1,1 mL dan 13 ppm dipipet 1,3 mL.. Dari masing-masing konsentrasi larutan Trolox® dipipet 2,5 mL dan ditambahkan 1 mL DPPH. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yaitu 517 nm.

Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 10 mg, dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a (1000 ppm). Dari larutan tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi 500 ppm dipipet 2,5 mL dalam labu tentukur 5 mL. Dari larutan (500 ppm) dipipet 2,5 mL, ditambahkan 1 mL DPPH. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan

menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi.

#### 5. Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{\text{Maks}}$ )

Pengujian dilakukan dengan mencampur 1 mL  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M, ditambahkan 1 mL Neokuproin Etanolik 0,0075 M, 1 mL Buffer amonium asetat 1 M, kemudian ditambahkan 1 mL etanol p.a dan ditambahkan 0,1 mL aquadest dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil running yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 448 nm.

#### Pembuatan Kurva Baku Trolox<sup>®</sup>

Trolox<sup>®</sup> ditimbang sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (50 ppm). Dari larutan Trolox<sup>®</sup> 50 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 10 ppm dipipet 1 mL, 20 ppm dipipet 2 mL, 30 ppm dipipet 3 mL, 40 ppm dipipet 4 mL dan 50 ppm dipipet 5 mL. Dibuat larutan dalam vial yaitu dipipet 1 mL  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M, 1 mL Neokuproin Etanolik 0,0075 M, 1 mL Buffer amonium asetat 1 M kemudian ditambahkan 1 mL dari masing-masing konsentrasi trolox<sup>®</sup> dan 0,1 mL aquadest. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 448 nm.

#### Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (1000 ppm). Dari larutan tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi 500 ppm dipipet 2,5 mL dalam labu tentukur 5 mL., dibuat larutan yaitu 1 mL  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,01 M, 1 mL Neokuproin Etanolik 0,0075 M, 1 mL Buffer amonium asetat 1 M, ditambahkan 1 mL sampel (500 ppm) dan 0,1 mL aquadest. Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 448 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi.

#### 6. Kapasitas Antioksidan Metode FRAP Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{\text{Maks}}$ )

Pengujian dilakukan dengan mencampur 3 mL reagen FRAP dan 1 mL aquadest dalam vial, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari hasil running yang dilakukan didapatkan nilai panjang gelombang maksimum yaitu 590 nm.

#### Pembuatan Kurva Baku Trolox<sup>®</sup>

Trolox<sup>®</sup> ditimbang sebanyak 2,5 mg dan dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (50 ppm). Dari larutan Trolox<sup>®</sup> 50 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 12 ppm dipipet 1,2 mL, 14 ppm dipipet 1,4 mL, 16 ppm dipipet 1,6 mL, 18

ppm dipipet 1,8 mL dan 20 ppm dipipet 2 mL. Dipipet 3 mL dari reagen FRAP ke dalam vial kemudian ditambahkan 1 mL trolox dari masing-masing Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 590 nm. Pengukuran Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 50 mg, dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a (1000 ppm). Dari larutan tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi 500 ppm dipipet 2,5 mL dalam labu tentuukur 5 mL., dibuat larutan dalam vial dengan memipet 3 mL reagen FRAP ditambahkan 1 mL sampel (500 ppm). Sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 590 nm. Sampel dibuat dalam tiga replikasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L) dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L)

Sampel	Berat sampel (g)	Volume pelarut (L)	Berat Ekstrak (g)	Persen Rendamen (%)
--------	------------------	--------------------	-------------------	---------------------

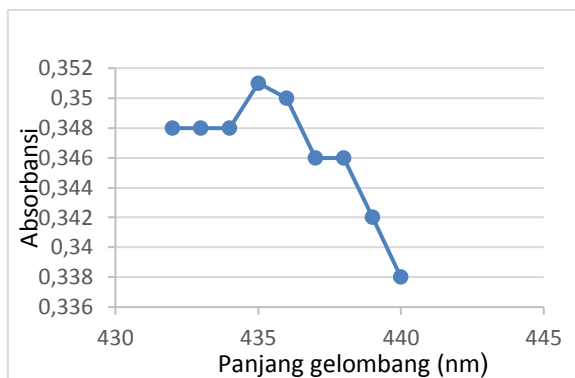
Kulit Batang Kelor	650	8	7,3689	1,1
--------------------	-----	---	--------	-----

Berdasarkan skrining fitokimia, ekstrak etanol kulit batang kelor mengandung senyawa steroid, flavonoid, alkaloid, fenolat, dan tanin. Kandungan kimia flavonoid, Steroid, alkaloid dan fenolik memiliki fungsi sebagai antidiabetik, antioksidan, antikanker, antiseptik dan antiinflamasi (Ikalinus, 2015). Adapun hasil rendamen dari ekstrak etanol kulit batang kelor yaitu 7,3689 gram dengan % rendamen sebanyak 1,1 %.

**Tabel 2.** Penetapan Kadar Flavonoid Total

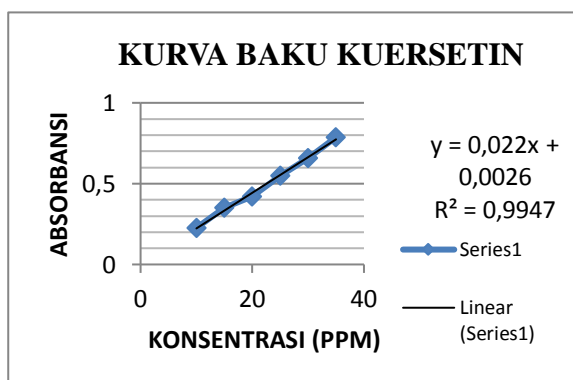
Replikasi	Berat Sampel (Gram)	Absorbansi	Kadar Flavonoid (mgQE/g ekstrak)
I	0,01004	0,482	21,73
II	0,01001	0,431	19,48
III	0,01005	0,429	19,31
Rata-Rata			20,17

Selanjutnya dilakukan uji kuantitatif untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel digunakan kuarsetin sebagai larutan standar. Langkah awal yang perlu dilakukan adalah menentukan panjang gelombang maksimum dengan pengukuran larutan standar kuersetin 20 ppm pada panjang gelombang 400-450 nm dan pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum 435 nm.



**Grafik 1.** Panjang gelombang maksimum kuersetin 435 nm

Pada pengukuran kadar flavonoid total diperoleh nilai absorbansi larutan standar kuersetin yaitu  $y = 0,022x + 0,0026$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh sebesar 0,994 dan koefisien korelasi ( $r$ ) adalah 0,997.



**Grafik 2.** Kurva Baku Kuersetin

Hal yang sama juga dilakukan untuk pengukuran absorbansi sampel ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) yang dibuat sebanyak 3 replikasi untuk keperluan akurasi data. Dimana larutan sampel ditambahkan 1 mL aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah *visible* (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning.

Kemudian ditambahkan 1 mL kalium asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak). Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) sebesar 20,17 mg QE/g Ekstrak. (Lihat tabel 2)

Ekstrak etanol yang diperoleh dilakukan pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH, CUPRAC dan FRAP yang diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dari masing-masing metode.

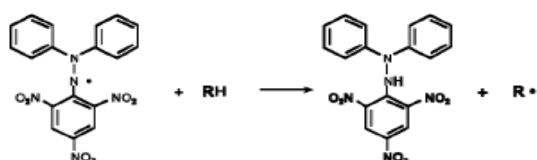
Pada penelitian ini digunakan antioksidan sintetik sebagai kontrol positif yaitu troloks. Secara struktur troloks serupa dengan  $\alpha$ -tokoferol kecuali penggantian rantai samping hidrokarbon dengan gugus  $COOH$ . Troloks berupa bubuk berwarna putih sampai kuning dan memiliki titik leleh 189-195 °C. Senyawa ini stabil selama 2 bulan pada suhu 2-8 °C dan mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan  $\alpha$ -tokoferol, BHA, serta BHT (Belitz 1999). Troloks sering dipergunakan sebagai standar dalam pengukuran antioksidan.

**Tabel 3.** Kapasitas Antioksidan Metode DPPH

Replika si	Berat Sampe l (Gram)	Absorban si	Kapasitas Antioksida n (mgTr/g ekstrak)
I	0,010 6	0,542	19,41
II	0,010 2	0,599	22,50
III	0,010 7	0,588	21,02
<b>Rata-Rata</b>			<b>20,97</b>

Pada pengujian kapasitas antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode serapan 1,1-difenil-1-pikrihidrazil, yang sederhana, cepat, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Selain itu, metode ini akurat dan praktis.

Metode DPPH ini memberikan serapan kuat pada panjang gelombang maksimum 517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampur kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya yaitu yang terlihat pada gambar berikut:



**Gambar 1.** Mekanisme penghambatan radikal DPPH

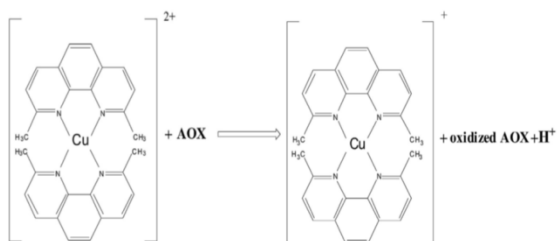
Pengukuran kapsitas antioksidan dengan metode DPPH ditandai dengan perubahan warna setelah inkubasi. Proses inkubasi pada penelitian ini dilakukan selama 30 menit, tujuannya untuk mempercepat reaksi antara radikal DPPH dengan sampel yang bertindak sebagai antioksidan. Perubahan warna ini terjadi pada ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dan trolox sebagai pembanding dimana ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) mengalami perubahan warna yang tidak signifikan setelah diinkubasi. Perubahan tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) hanya mendonorkan atom H-nya dalam jumlah yang sedikit. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan kemampuan antioksidan untuk menangkal radikal bebas.

Hasil uji kapasitas antioksidan dengan metode DPPH yaitu untuk replikasi 1 hasil Yang didapatkan yaitu 19,41 mg Tr/g Ekstrak, replikasi 2 sebesar 22,504 mg Tr/g Ekstrak dan untuk replikasi 3 yaitu 21,02 mg Tr/g Ekstrak sehingga hasil rata-rata untuk kapasitas antioksidan metode DPPH yaitu 20,978 mg Tr/g Ekstrak (Tabel 3). Hasil menunjukkan bahwa semakin besar kapasitas maka semakin besar pula kemampuan sampel sebagai antioksidan.

**Tabel 4.** Kapasitas Antioksidan Metode CUPRAC

Replikasi i	Berat Sampel (Gram)	Absorbansi i	Kapasitas Antioksidan (mgTr/g ekstrak)
I	0,0500 2	0,380	5,01
II	0,0500 1	0,324	4,26
III	0,0500 6	0,395	5,20
Rata-Rata			4,82

Pada pengujian antioksidan metode CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity) kompleks bisneokuproin-tembaga(II) akan mengoksidasi senyawaan antioksidan dalam ekstrak tanaman dan mengalami reduksi membentuk kompleks bis-neokuproin-tembaga(I). Secara visual hal ini dapat dilihat dari perubahan warna kompleks larutan dari biru menjadi kuning.



**Gambar 2.** Reaksi Metode CUPRAC

Reagen kromogenik redoks yang digunakan dalam uji CUPRAC ini adalah bis(neokuproin) tembaga(II) khelat. Reagen ini bekerja pada pH 7, dan absorbansi pembentukan Cu(I)-khelat sebagai hasil reaksi redoks dengan mereduksi polifenol diukur pada 450 nm. Warna berasal dari terbentuknya khelat Cu(I)-Nc (Apak, 2007).

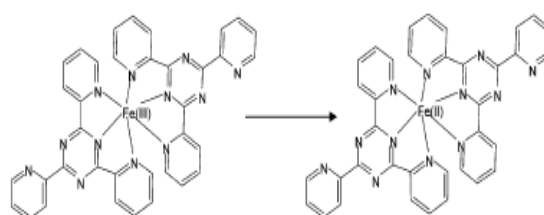
Pada metode CUPRAC nilai kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol

Kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) untuk, replikasi 1, replikasi 2 dan replikasi 3 masing-masing hasilnya yaitu 5,01 mg Tr/g Ekstrak, 4,26 mg Tr/g Ekstrak, 5,206 mg Tr/g Ekstrak dan hasil kapasitas antioksidan untuk metode CUPRAC yaitu 4,82 mg Tr/g Ekstrak.

**Tabel 5.** Kapasitas Antioksidan Metode FRAP

Replikasi i	Berat Sampe l (Gram)	Absorbansi i	Kapasitas Antioksidan (mgTr/g ekstrak)
I	0,0500 2	0,632	2,45
II	0,0500 1	0,627	2,43
III	0,0500 6	0,686	2,60
Rata-Rata			2,49

Pada pengujian metode ketiga yaitu metode FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) didasarkan atas kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi senyawa besi(III)-tripiridil-triazin menjadi besi(II)-tripiridil triazin pada pH 3,6. Pada pengujian antioksidan metode ini, menggunakan  $\text{Fe(TPTZ)}_2^{3+}$  kompleks besi ligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru  $\text{Fe(TPTZ)}_2^{3+}$  akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi  $\text{Fe(TPTZ)}_2^{2+}$  yang berwarna kuning dengan reaksi sebagai berikut:





### Gambar 3. Reaksi metode FRAP

Pada metode ini didapat nilai kapasitas antioksidan yaitu 2,494 mgTr/g Ekstrak. Yang mana diperoleh dari replikasi 1 sebesar 2,45 mg Tr/g Ekstrak, replikasi 2 sebesar 2,43 mg Tr/g Ekstrak dan replikasi 3 yaitu 2,602 mg Tr/g Ekstrak.

Dari hasil penelitian dari ketiga metode ini, pada metode FRAP ini menunjukkan nilai kapasitas antioksidan yang kecil dibandingkan dengan metode CUPRAC dan DPPH. Hal ini diduga karena larutan FRAP bersifat kurang stabil, Menurut Ou *et al.* (2002), pengukuran antioksidan dengan metode FRAP dapat berjalan akurat apabila dilakukan pada senyawaan antioksidan yang bisa mereduksi Fe(III)TPTZ pada kondisi reaksi secara termodinamika dan memiliki laju reaksi yang cukup cepat. Selain itu, antioksidan yang teroksidasi dan semua produk reaksi sekundernya harus tidak memiliki serapan maksimum pada absorbansi 598 nm atau serapan Fe(II)TPTZ. Pada kenyataannya kondisi ini sulit ditemui dan tidak realistis (Apak *et al.* 2007), Menurut Ou *et al.* (2002), hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu karena nilai potensial reduksi standar dari Fe (III)/Fe(II) adalah 0.77 V sehingga senyawa apapun dengan nilai potensial reduksi dibawah 0.77 V dapat mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II) dan memberikan kontribusi pada pengukuran antioksidan dengan metode FRAP. Selain itu, tidak

semua antioksidan dapat mereduksi Fe(III) dengan waktu yang sesuai dengan waktu inkubasi. Penyebab lainnya, senyawaan pengganggu dapat memiliki serapan absorbans maksimum pada daerah pengukuran FRAP.

### KESIMPULAN

1. Kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 96% kulit batang kelor (*Moringa oleifera* L) sebesar 20,17 mg QE/gEkstrak.
2. Ekstrak etanol 96% kulit batang kelor (kelor (*Moringa oleifera* L) pada metode DPPH memiliki kapasitas antioksidan sebesar 20,978 mg Tr/gEkstrak, pada metode CUPRAC sebesar 4,82 mg Tr/gEkstrak dan untuk metode FRAP besarnya kapasitas antioksidan yang didapatkan yaitu 2,49 mg Tr/gEkstrak.

### KEPUSTAKAAN

- Apak, R, Guchu, Demirata B. (2007). *Comparative Evaluation OF Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied To Phenolic Compounds With The CUPRAC Assays*. Molecules.
- Direktorat Obat Asli Indonesia. (2008). *Taksonomi ti Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Citereup*. Jakarta: BPOM RI.
- Haris,M. (2011). *Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Dari Daun Dewa (Gynura Pseudochina [Lour] CD) dengan Spektrofotometri UV-Visible*. Skripsi. Padang :Universitas Andalas.

- Ikalinus, Robertino, Sri Kayati, Ni Luh Setiasih. (2015). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (Moringa oleifera L)*. Bali: Indonesia Medicinus Veterinus Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
- Widyastuti, Niken. (2010). *Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode CUPRAC, DPPH and FRAP serta Korelasinya Dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman*. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.
- Wijayanti, Margareta Novi. (2016). *Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Buah Buni (Antidesma Buntus L) denganMetod DPPH dan Metode Folin-Ciocalteu*.Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.